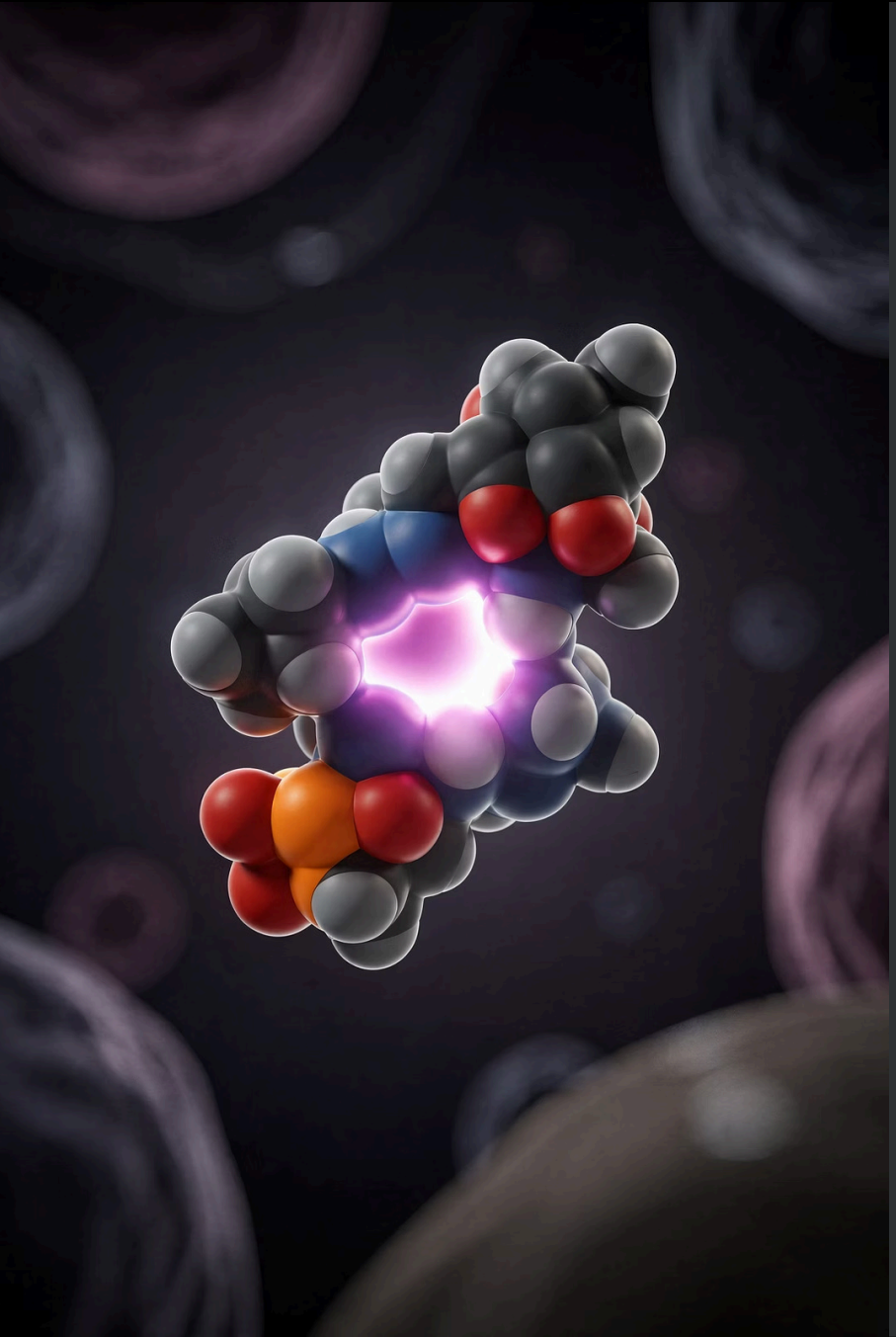


Protein Katlanması: Tek Boyutlu Bilginin Üç Boyutlu Sanata Dönüşüm Süreci

Ders Sunumu

Teradigma

Proteinler: Hayatın Moleküler Makineleri

Hücrenin yapısal bütünlüğünden metabolik katalizize, molekül taşımacılığından sinyal iletimine kadar sayısız hayati süreç, **protein** adı verilen özelleşmiş moleküler makineler aracılığıyla işletilir.

Bu makinelerin işlevselliğinin temelinde hayranlık uyandıran bir dönüşüm yatar: ribozomlarda sentezlenen tek boyutlu bir amino asit dizisinin, son derece hassas ve özgün bir üç boyutlu yapıya dönüştürülmesi.

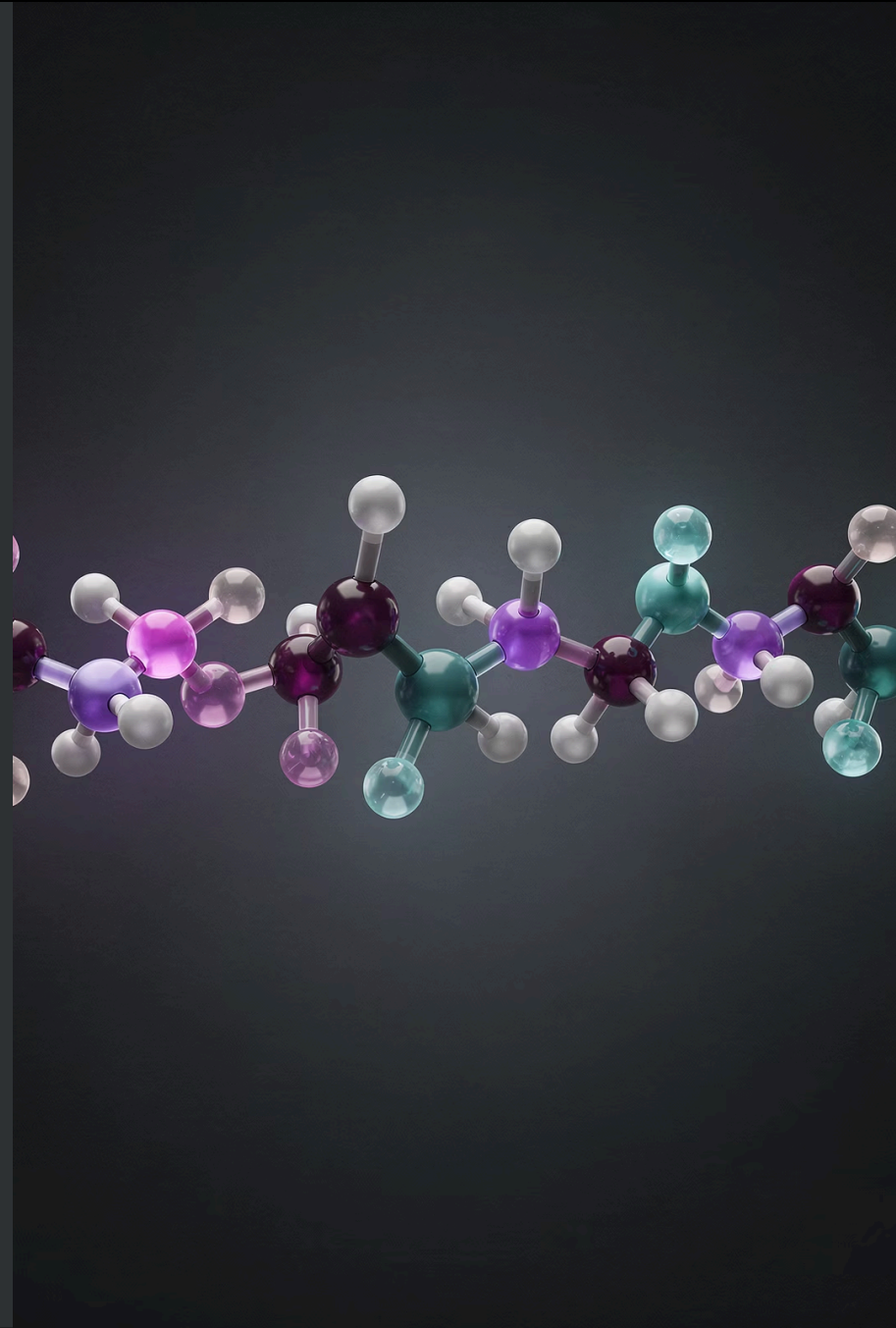
Hammadde: Amino Asitler

Yapısal Temel

Her amino asit; merkezi bir α-karbon atomuna bağlı bir amino grubu, bir karboksil grubu, bir hidrojen ve bir **R grubu** (yan zincir) taşır.

Katlanma Açısından Sınıflandırma

- 20 çeşit standart amino asit, boyut, şekil, yük ve reaktivite bakımından farklılık gösterir
- Katlanma açısından en belirleyici sınıflandırma: **hidrofilik** (polar/yüklü) ve **hidrofobik** (apolar) yan zincirler
- Bu kimyasal eğilim, katlanmanın en baskın termodinamik itici gücünü teşkil eder



Birincil Yapı: Şifreli Dizi

DNA'daki genetik kod, ribozom adı verilen moleküler fabrikalarda okunur; amino asitler bu koda uygun sırada **peptit bağları** ile birbirine bağlanır.

Oluşan tek boyutlu, dallanmamış zincire **birincil yapı** (primary structure) adı verilir.

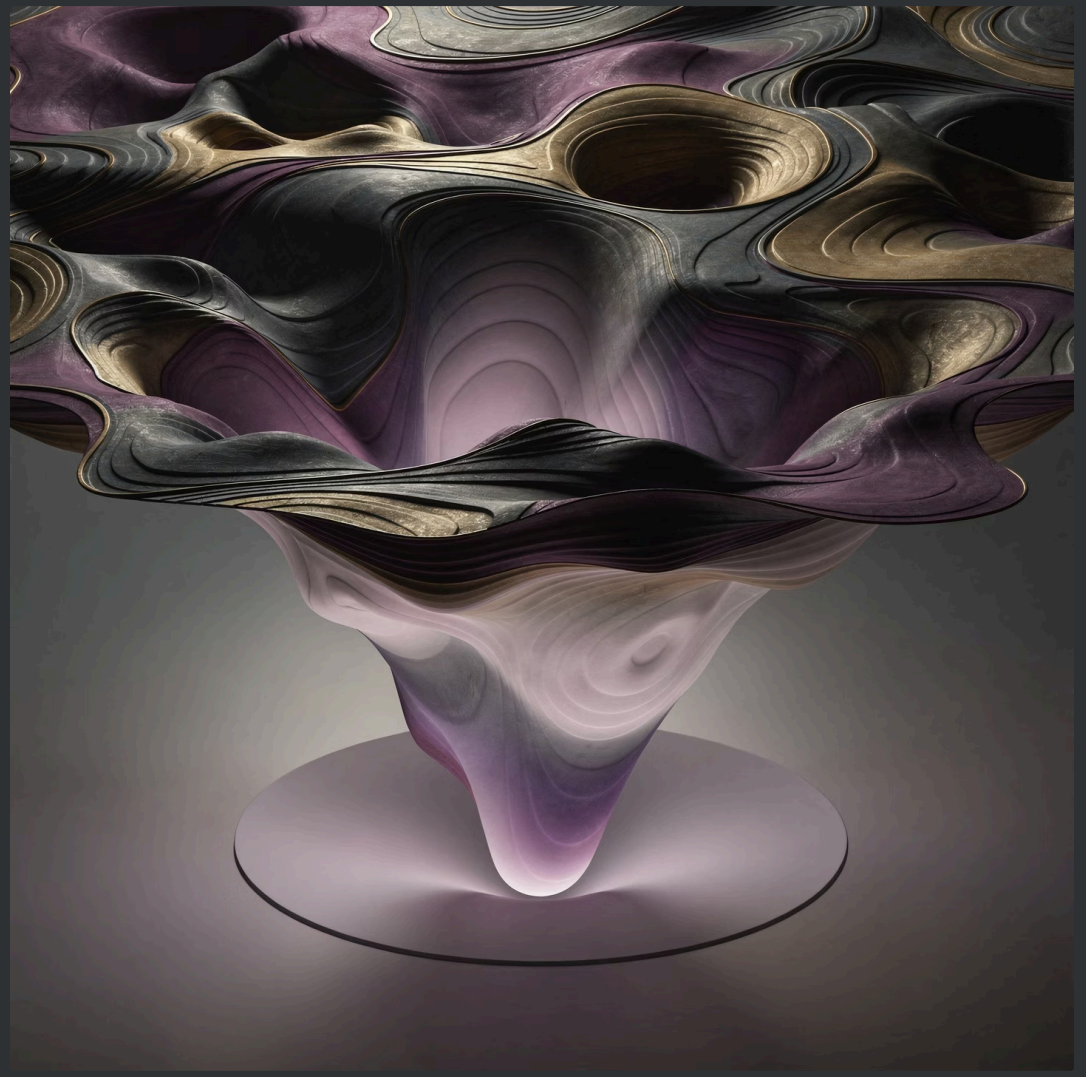
> Birincil yapı yalnızca bir sıralanış değildir; proteinin ulaşacağı nihai üç boyutlu yapıya dair tüm bilgiyi içeren bir şifredir.

Katlanmanın Termodinamiği

Katlanma süreci, sistemin **serbest enerjisini** minimize edecek, yani termodinamik olarak en kararlı konformasyona ulaşacak yönde işletilir.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

- Sürecin ana itici gücü: **hidrofobik çökme** (hydrophobic collapse)
- Hidrofobik gruplar molekülün iç kısmına gömülerek sudan uzaklaştırılır
- Bu hareket çevreleyen su moleküllerinin entropisini artırır; artan entropi ΔG'yi düşürerek katlanmayı termodinamik olarak elverişli kılar



Yapıyı Sabitleyen Zayıf Etkileşimler

Hidrofobik çökme genel çerçeveyi oluşturduktan sonra, nihai yapı bir dizi kovalent olmayan etkileşimle sabitlenir:

Hidrojen Bağları

Omurga ve polar yan zincirler arasında; ikincil yapının inşasında kritik rol üstlenir

Van der Waals Kuvvetleri

Atomların sıkı paketlenmesini sağlar

İyonik Bağlar (Tuz Köprüleri)

Zıt yüklü yan zincirler arasında elektrostatik kenetlenme

Disülfit Köprüleri

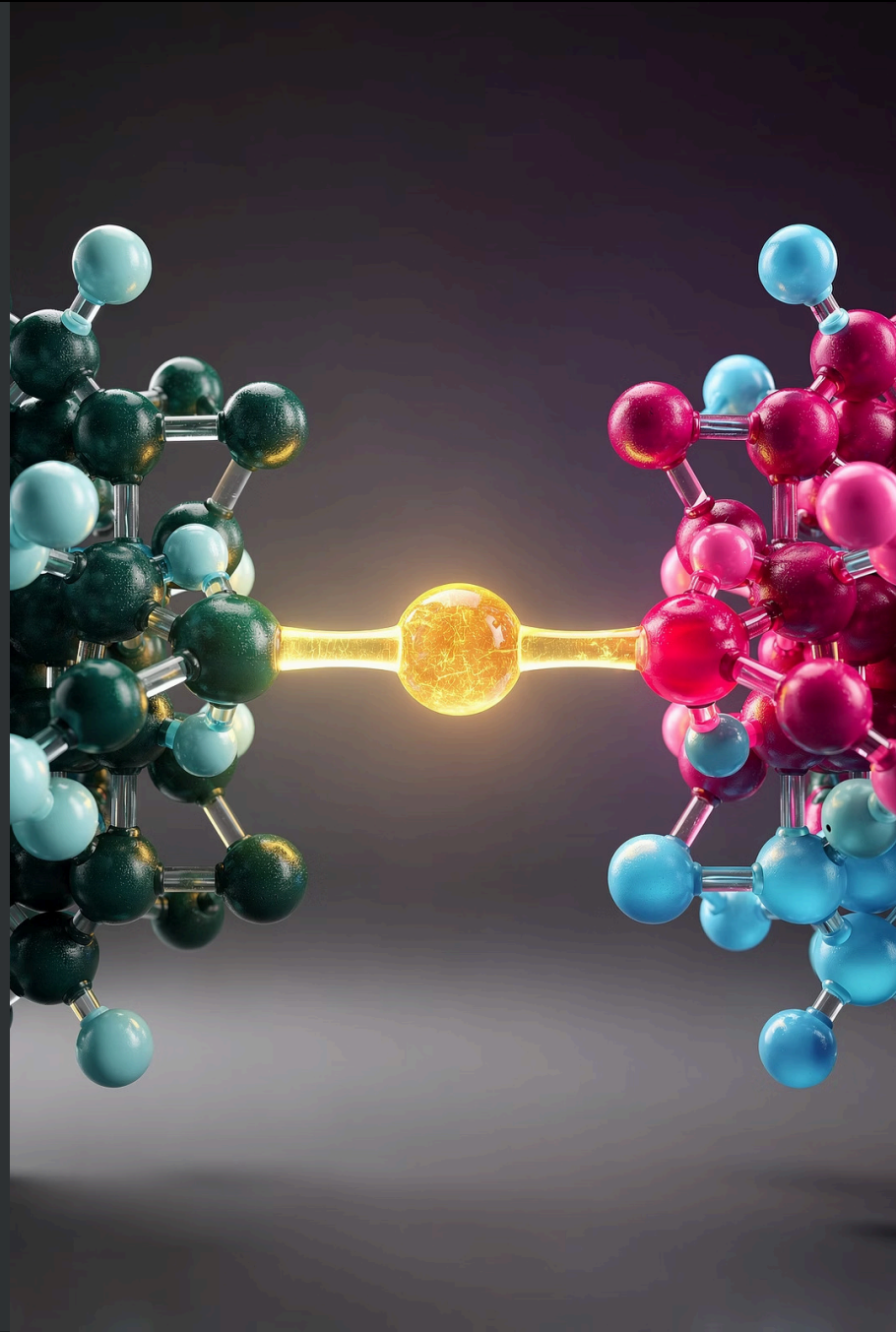
Kimyasal Reaksiyon

$$-CH_2-SH + HS-CH_2- \xrightarrow{\text{oksidasyon}} -CH_2-S-S-CH_2-$$

İki **sistein** amino asidinin sülfür atomları arasında güçlü bir kovalent bağ kurulur.

Önemi

- Bu bağlar, özellikle hücre dışına salgılanan proteinlerin yapısını kalıcı olarak stabilize eder
- Tek başına zayıf olan kovalent olmayan etkileşimlerin binlercesinin kümülatif etkisi, son derece güçlü bir yapısal bütünlük meydana getirir



Yapısal Hiyerarşi: İkincil Yapı

Katlanmanın ilk aşamalarında polipeptit zincirinin yerel bölgeleri, omurga atomları arasındaki tekrarlayan hidrojen bağı desenleriyle düzenli yapılar oluşturur:

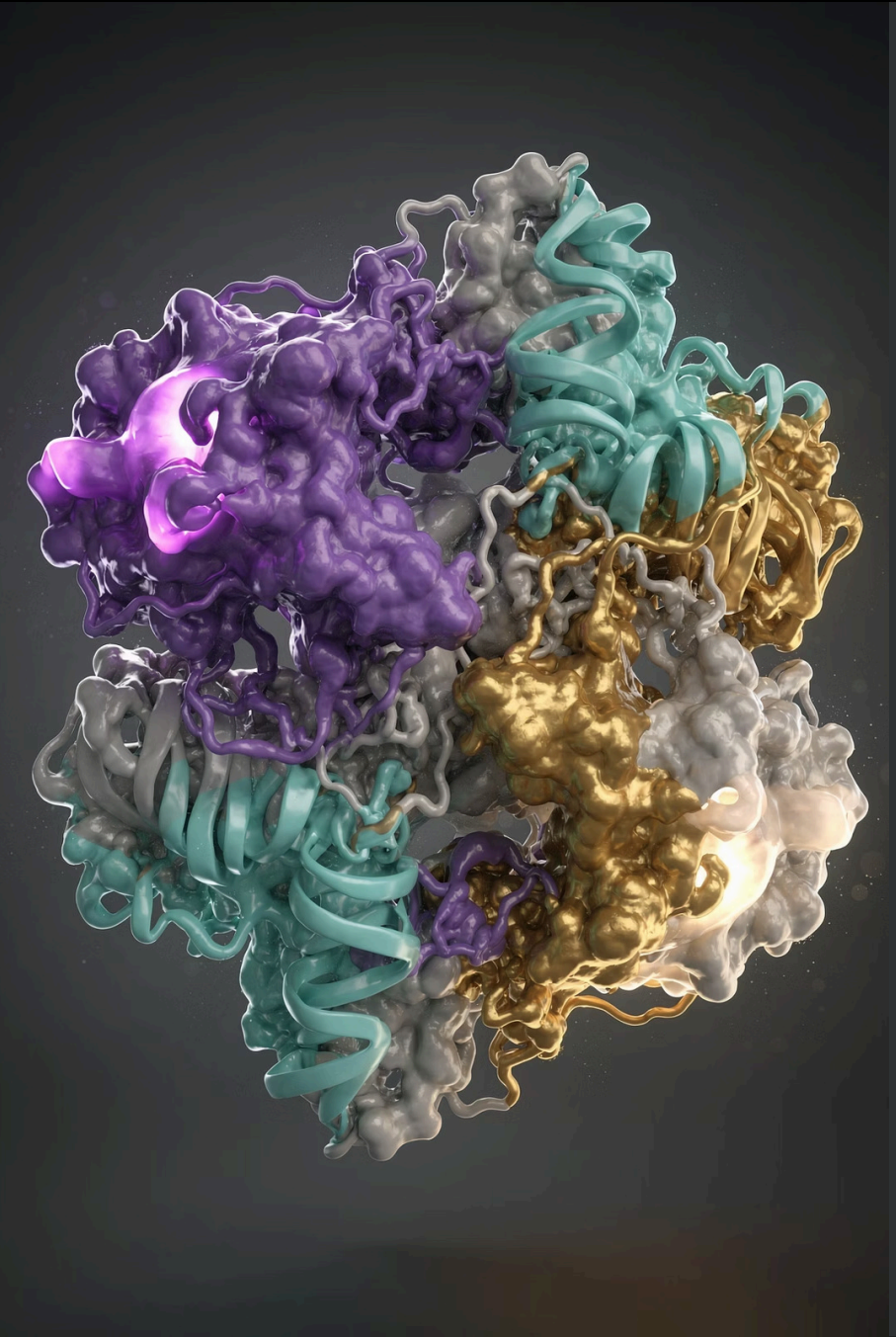
Alfa-Sarmal (α-helix)

Sağ el sarmal biçiminde döngüsel yapı

Beta-Tabaka (β-sheet)

Katlanmış tabaka görünümünde düzlemsel yapı

Bu yapılar, daha karmaşık üçüncül yapının temel inşa blokları olarak hizmet görür.



Yapısal Hiyerarşi: Üçüncül ve Dördüncül Yapı

Üçüncül Yapı

İkincil yapı elemanları ve döngü bölgeleri, tüm etkileşimler aracılığıyla üç boyutlu uzayda katlanır; ortaya çıkan kompakt ve biyolojik olarak işlevsel form, proteinin nihai kimliğidir

Dördüncül Yapı

Birden fazla polipeptit alt biriminin bir araya gelerek oluşturduğu kompleks; örneğin hemoglobin dört ayrı alt birimden tertip edilmiştir

Enzimatik aktivite, molekül tanıma veya kanal oluşturma gibi görevler, doğru üçüncül yapının teşkil edilmesine bağlıdır.

Anfinsen'in Deneyi: Bilgi Dizide Şifrelenmiştir

Christian Anfinsen, **ribonükleaz A (RNase A)** enzimi üzerinde çalışarak şu süreci inceledi:

01

Denatürasyon

Üre ve beta-merkaptoetanol ile enzimin üç boyutlu yapısı tamamen bozuldu; enzim biyolojik aktivitesini yitirdi

02

Ajan Uzaklaştırma

Denatüre edici ajanlar diyaliz ile uzaklaştırıldı

03

Kendiliğinden Yeniden Katlanma

Enzim, herhangi bir dış yardım veya enerji girdisi olmaksızın orijinal yapısına **kendiliğinden** geri döndü ve aktivitesini neredeyse tamamen geri kazandı

Nobel Ödülü

Bu deney Anfinsen'e **1972 Nobel Kimya Ödülü'nü** kazandırdı.

Anfinsen Dogması: Termodinamik Hipotez

> Bir proteinin fizyolojik koşullardaki doğal (native) yapısı, o polipeptit zincirinin termodinamik olarak en kararlı — en düşük serbest enerjili — konformasyonudur.

Bu yapıya ulaşmak için gerekli tüm bilgi, başka hiçbir dışsal faktöre ihtiyaç duyulmaksızın, proteinin **amino asit diziliminde** şifrelenmiştir.

Peki bu bilgi, hangi mekanizma aracılığıyla üç boyutlu yapıya dönüştürülmektedir?

Levinthal Paradoksu: Rastgele Aramanın İmkânsızlığı

Cyrus Levinthal (1969), 100 amino asitlik bir polipeptit için şu hesabı ortaya koydu:

Konformasyon Sayısı

Her amino asit omurga etrafında birkaç kararlı konformasyon alabilir; toplam olası konformasyon sayısı astronomik bir rakama ulaşır

Hesaplanan Süre

Her olasılık 10^{-12} saniyede (pikosaniye) denense bile arama süreci evrenin yaşından (~14 milyar yıl) **katrilyonlarca kat** uzun sürerdi

Gerçek Süre

Oysa gerçekte pek çok protein **milisaniyeler veya saniyeler** içinde doğru biçimde katlanır

Levinthal Paradoksu'nun Bildirdikleri

Paradoks, şu sonucu zorunlu kılar:

Proteinler katlanma sırasında **rastgele bir deneme-yanılma** yolu izlemez; aksine hedefe yönelik, yönlendirilmiş bir süreçten geçirilir.

> Anfinsen bilginin dizide var olduğunu gösterdi. Levinthal bu bilgiye tesadüfi erişimin fiziksel olarak imkânsız olduğunu kanıtladı. Bu iki bulgu bir çelişki değil, birbirini tamamlayan bir diyalektiktir.

Enerji Manzarası Teorisi: Katlanma Hunisi

1980'lerin sonundan itibaren geliştirilen **enerji manzarası** (energy landscape) teorisi, katlanmayı termodinamik ve istatistiksel bir perspektiften tanımlar:

1

Huninin Üstü

Yüksek enerjili, yüksek entropili, katlanmamış durum — geniş ağızlı bölge

2

Katlanma Süreci

Protein katlanmaya başladıkça konformasyon sayısı azalır, enerji düşer

3

Huninin Dibi

En düşük serbest enerjili, tek ve benzersiz **doğal (native) yapı**

Pürüzlü Manzara ve Çoklu Yollar

Enerji hunisi modeli, katlanma sürecinin tek bir sabit rotayla sınırlı olmadığını öngörür:

Çoklu Yollar

Protein sayısız farklı yoldan huninin dibine ulaşabilir

Yerel Tuzaklar

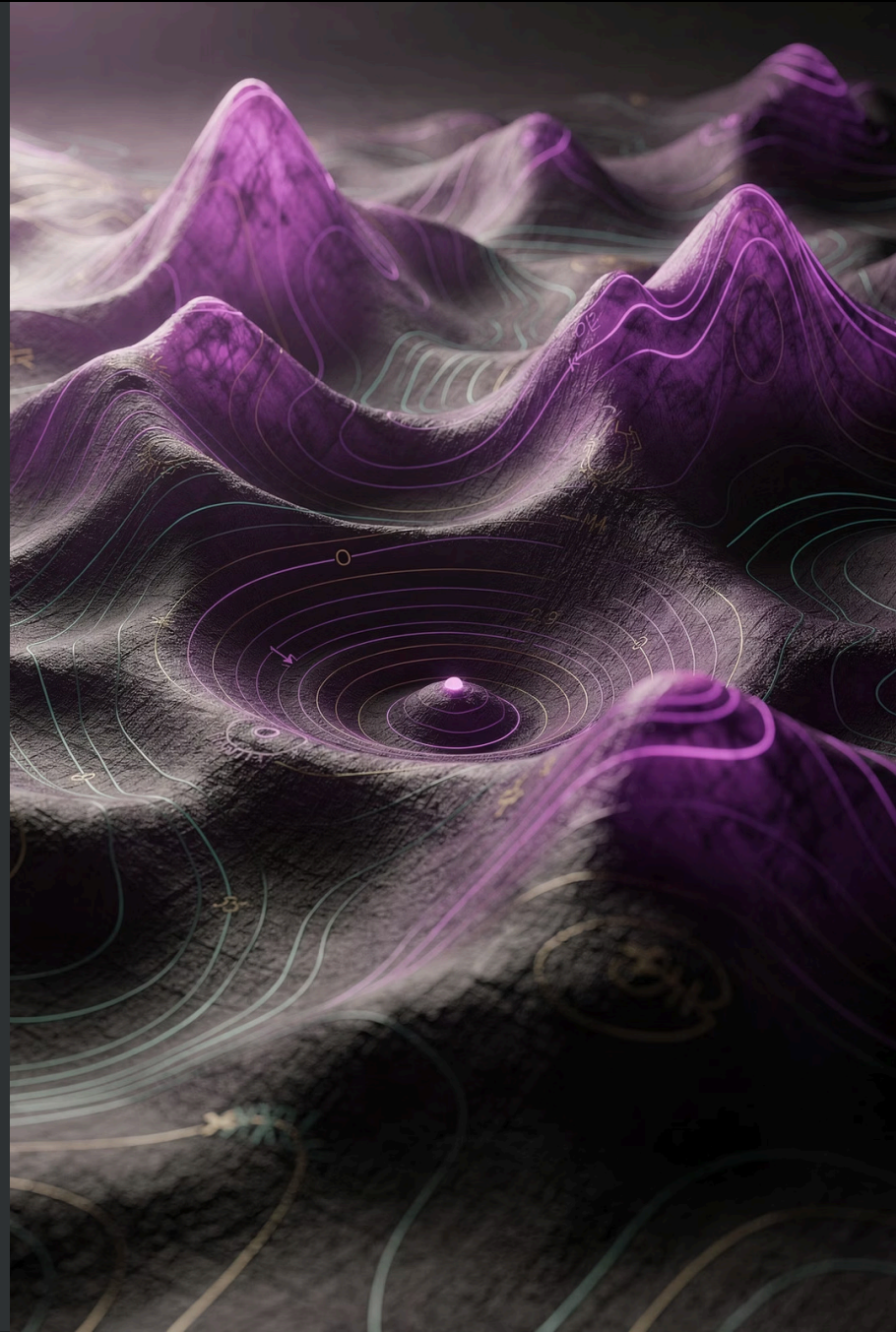
Manzaranın yüzeyi pürüzsüz değildir; geçici **yerel enerji minimumları** (tuzaklar) bulunur

Termal Dalgalanmalar

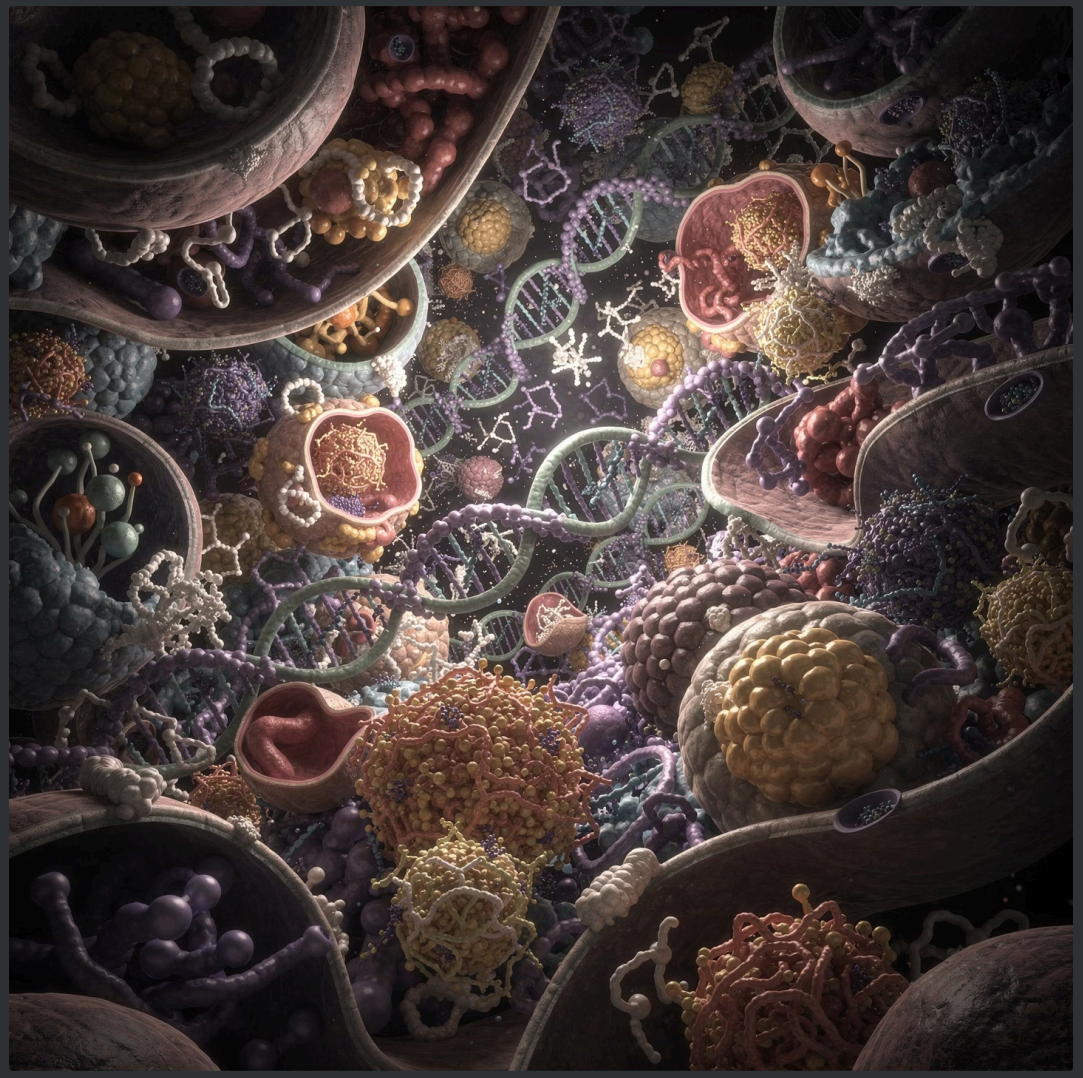
Termal dalgalanmalar bu tuzaklardan çıkışı sağlar

Minimal Engel

Doğal proteinlerin manzarası **minimal düzeyde engellenmiş** (minimally frustrated) yapıda olacak biçimde tertip edilmiştir

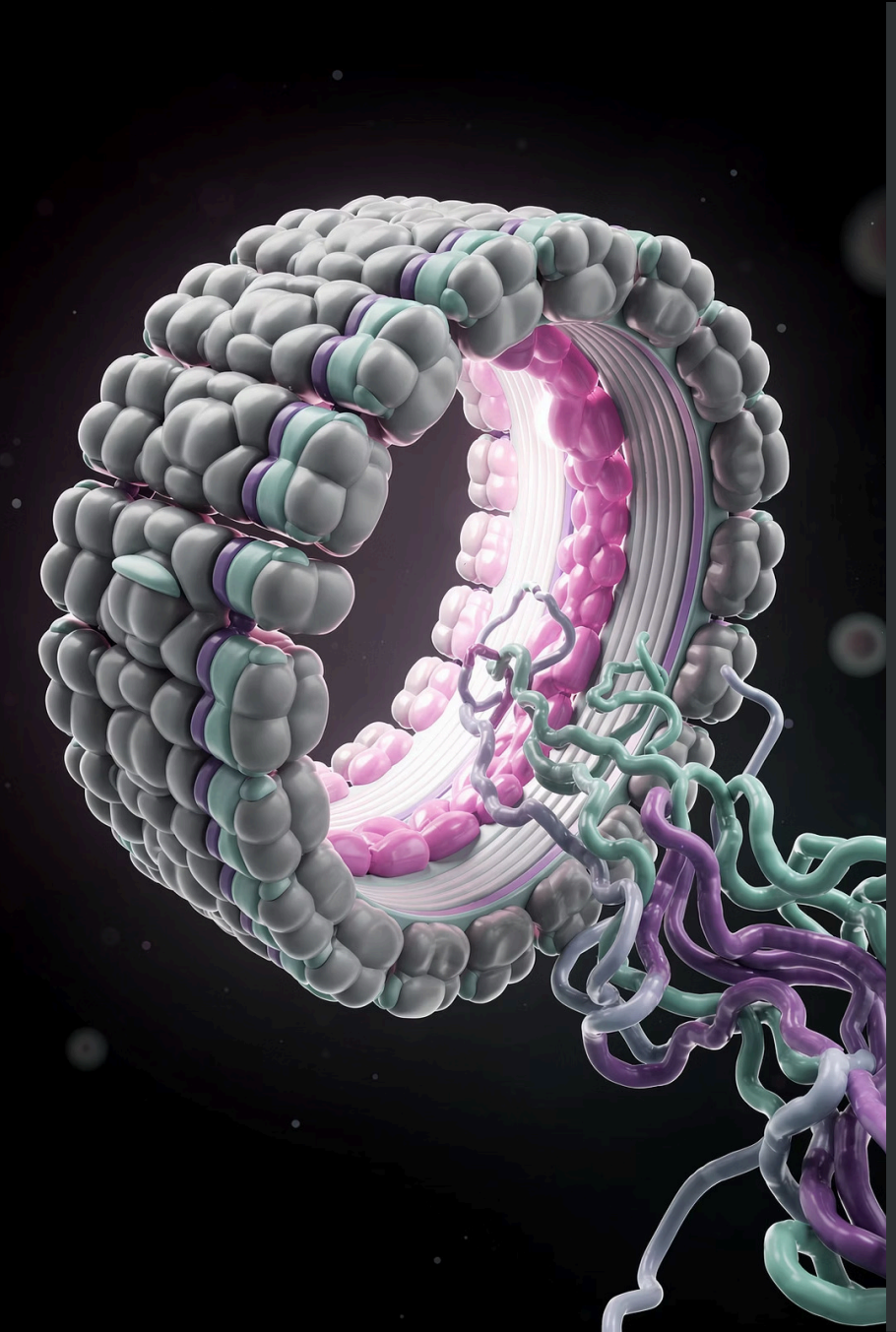


Hücresel Ortam ve Yanlış Katlanma Riski



Anfinsen'in deneyi seyreltik ve idealize edilmiş *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmiştir. Hücrenin içi ise **makromoleküler kalabalık** (macromolecular crowding) ile doludur:

- Proteinler, nükleik asitler ve diğer makromoleküllerle aşırı kalabalık bir ortam
- Yeni sentezlenen polipeptitler arasında yanlış etkileşim ve **agregasyon** riski ciddi biçimde artar
- Bu risk, özel bir denetim mekanizmasını zorunlu kılar



Moleküler Şaperonlar: Aktif Denetim Sistemi

Moleküler şaperon (molecular chaperone) adı verilen özel protein ailesi, katlanmakta olan polipeptitlerin hidrofobik bölgelerine geçici olarak bağlanır:

Koruma

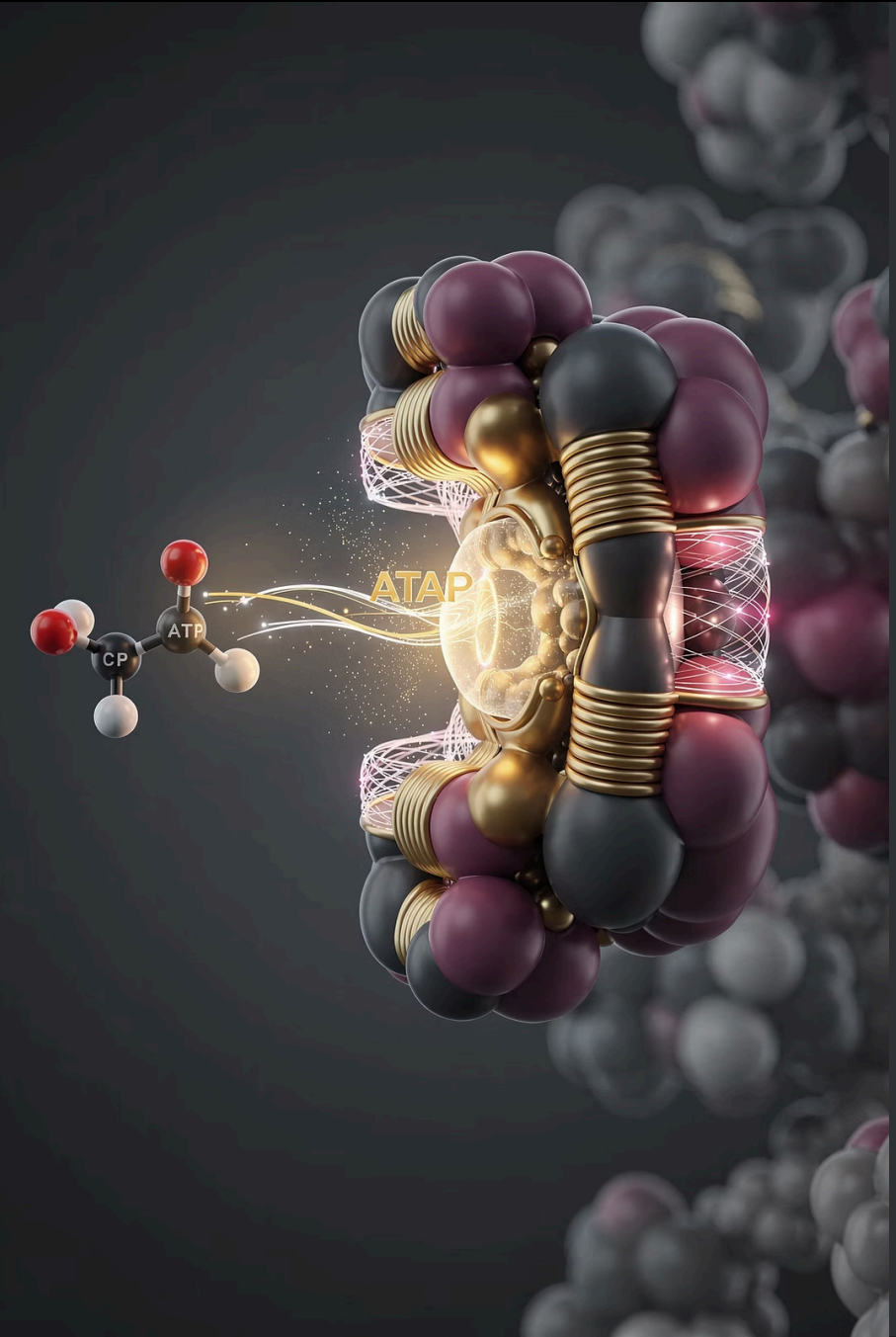
Diğer moleküllerle zamansız ve yanlış etkileşimleri engeller

Zaman ve Ortam

Doğru yapının bulunması için korunaklı ortam ve yeterli zaman sağlar

Yeniden Katlanma

Bazı şaperonlar yanlış katlanmış proteinleri aktif olarak **açarak** yeniden doğru katlanmayı uyarır



Şaperon Mekanizmaları: Holdazlar ve Foldazlar

Holdazlar

Katlanma ara ürünlerine bağlanarak onları agregasyondan koruyan pasif şaperonlar; serbest bırakan döngüyle çalışırlar

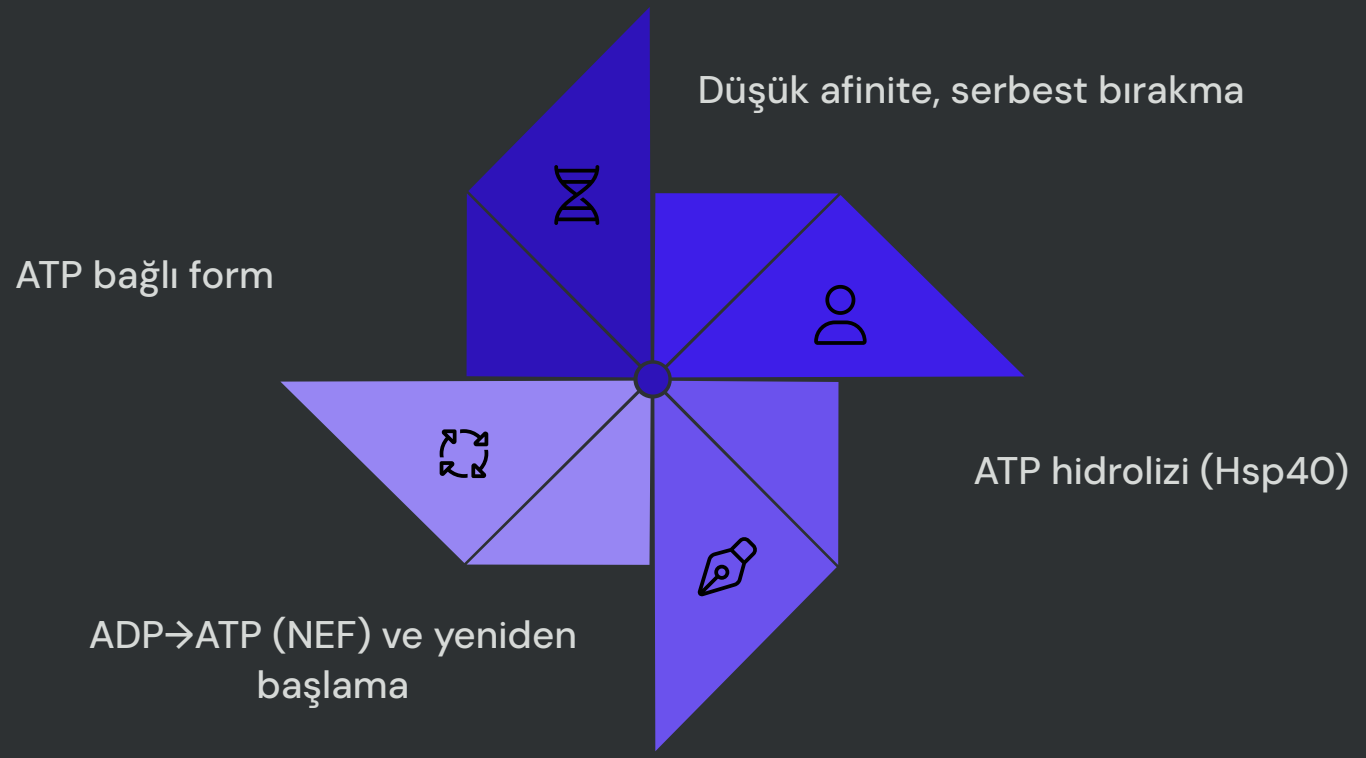
Foldazlar

ATP hidrolizinden elde edilen enerjiyi kullanarak substrat proteinlerin katlanmasına aktif olarak yardım eden şaperonlar; en bilinen üyeleri **Hsp70** ve **Hsp60 (şaperoninler)** sistemleridir

> Şaperonların ATP tüketerek çalışması, bu sürecin enerji gerektiren, aktif bir müdahale ve denetim mekanizması olduğunu kanıtlar.

Hsp70 Sisteminin Çevrim Döngüsü

Hsp70, ko-şaperon Hsp40 ve nükleotit değişim faktörü (NEF) ile koordineli bir döngü içinde işler:



Bu döngü, protein doğru katlanmış yapısına ulaşana kadar tekrarlanır.

Yanlış Katlanmanın Patolojik Sonuçları

Genetik mutasyonlar, oksidatif stres, sıcaklık değişimleri veya ağır metaller proteinlerin doğru yapıya ulaşmasını engelleyebilir:

İşlev Kaybı

Yanlış katlanmış protein görevini yerine getiremez

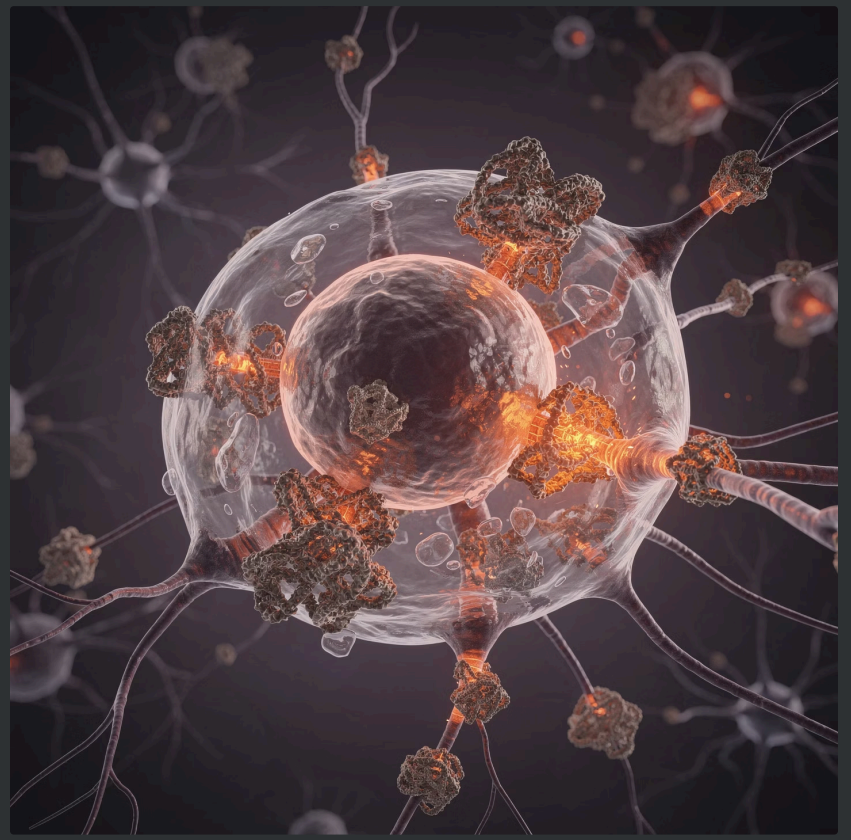
Toksik İşlev Kazanımı

Yanlış katlanmış proteinler birbirine yapışarak çözünmez, toksik **agregatlar** oluşturur

Hücresel Hasar

Bu agregatlar hücresel süreçleri bozar ve hücre ölümüne yol açar

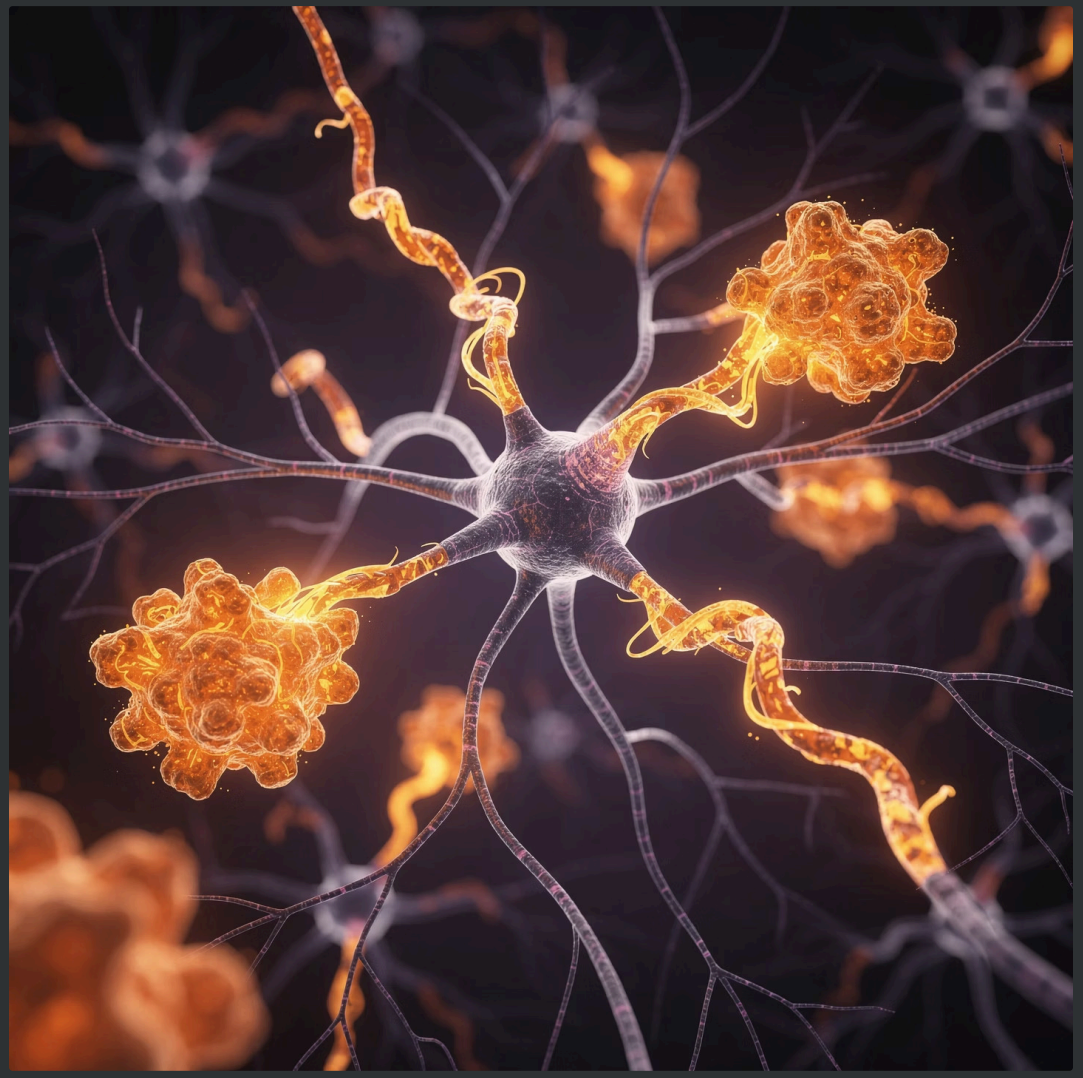
Bu tür hastalıklar genel olarak **proteinopatiler** veya **konformasyonel hastalıklar** olarak adlandırılır.



Başlıca Proteinopatiler

Hastalık	İlişkili Protein	Agregat Adı	Etkilenen Doku
Alzheimer	Aβ, Tau	Amiloid plaklar, Nörofibriler yumaklar	Beyin (Nöronlar)
Parkinson	Alfa-sinüklein	Lewy cisimcikleri	Substantia nigra
Huntington	Huntingtin	Nükleer inklüzyonlar	Beyin (Striatum)
Prion (CJD)	Prion proteini	PrP agregatları	Beyin
ALS	SOD1, TDP-43	Sitoplazmik inklüzyonlar	Motor nöronlar
Kistik Fibrozis	CFTR	(Yanlış katlanma/degradasyon)	Akciğer, pankreas

Alzheimer Hastalığı: Amiloid Kaskad Hipotezi



Beyinde iki tür patolojik birikim karakterize eder:

- Hücre dışında biriken Amiloid-beta (Aβ) peptidlerinden oluşan **amiloid plaklar**
- Hücre içinde biriken yanlış katlanmış Tau proteinlerinden oluşan **nörofibriler yumaklar**

Amiloid kaskad hipotezi uzun yıllar boyunca ana açıklayıcı model olarak kabul gördü. Ancak Aβ'yı hedefleyen klinik denemelerin sınırlı başarısı, hastalığın daha karmaşık bir etiyolojiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Parkinson Hastalığı: Alfa-Sinüklein Agregasyonu

01

Nöronal İşlev Kaybı

Substantia nigra bölgesindeki dopamin üreten nöronlar ilerleyici biçimde işlev yitirir

02

Lewy Cisimcikleri

Bu nöronlarda **alfa-sinüklein (α-synuclein)** adlı proteinin yanlış katlanmış ve agrege formlarından oluşan **Lewy cisimcikleri** birikir

03

Merkezi Soru

Normalde çözünür olan alfa-sinükleinin oligomerler ve ardından fibriller halinde nasıl biriktiği, hastalığın patogenezindeki merkezi sorulardan biridir

Sistemin Sağlamlığı ve Kırılganlığı

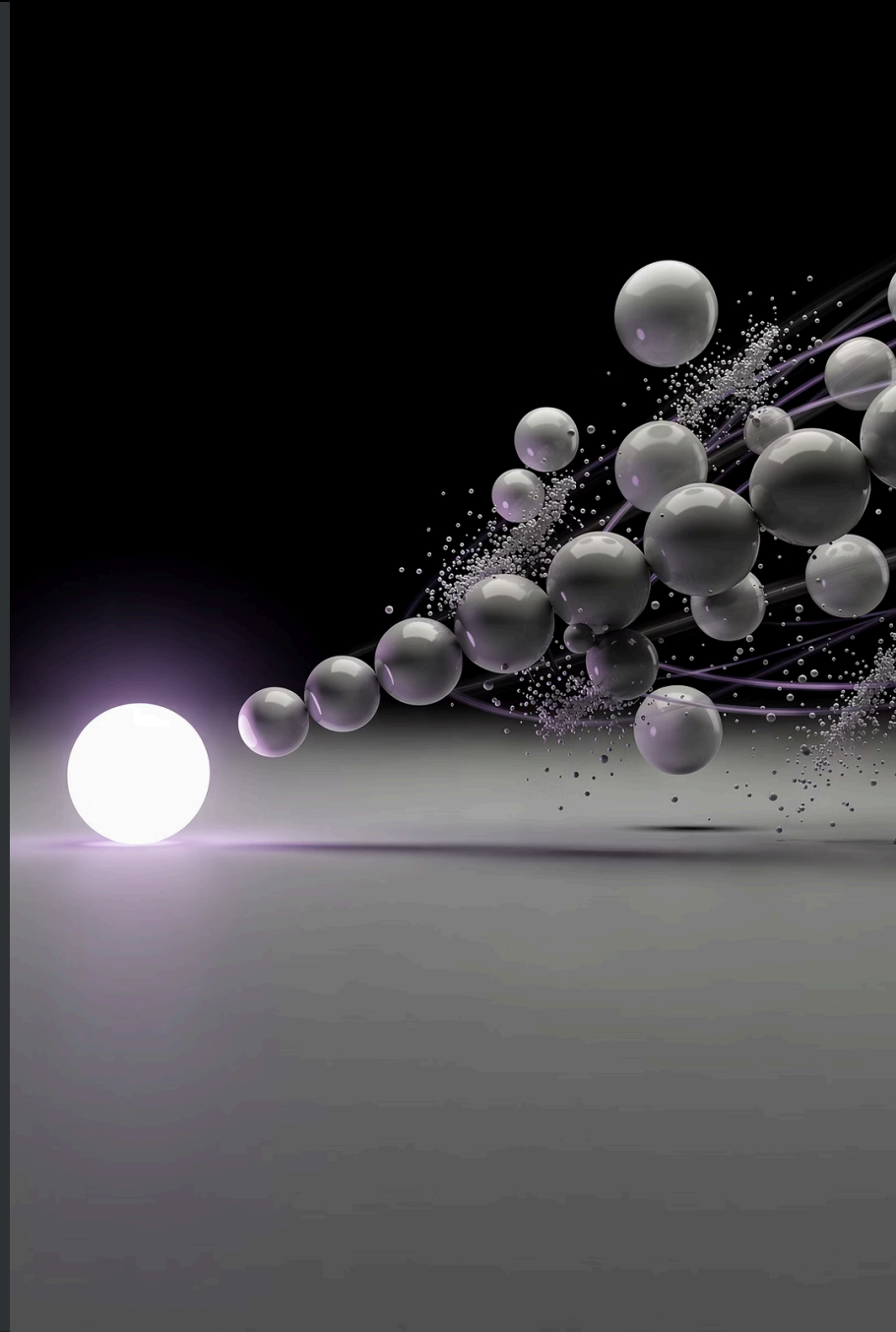
Sağlamlık

Enerji hunisi modeli, sistemin hafif pertürbasyonlara karşı dirençli olduğunu ve genel eğilimin her zaman doğru katlanmış yapıya doğru işlediğini gösterir.

Kırılganlık

Ancak tek bir proteinin yanlış katlanarak agregasyona başlaması, diğer sağlıklı proteinleri de çeken (seeding) ve dokuyu tahrip eden bir çığ sürecini tetikleyebilir.

> Bu ikilik, sürecin ne kadar yüksek bir hassasiyet ve mutlak bir kontrol gerektirdiğini gözler önüne serer.

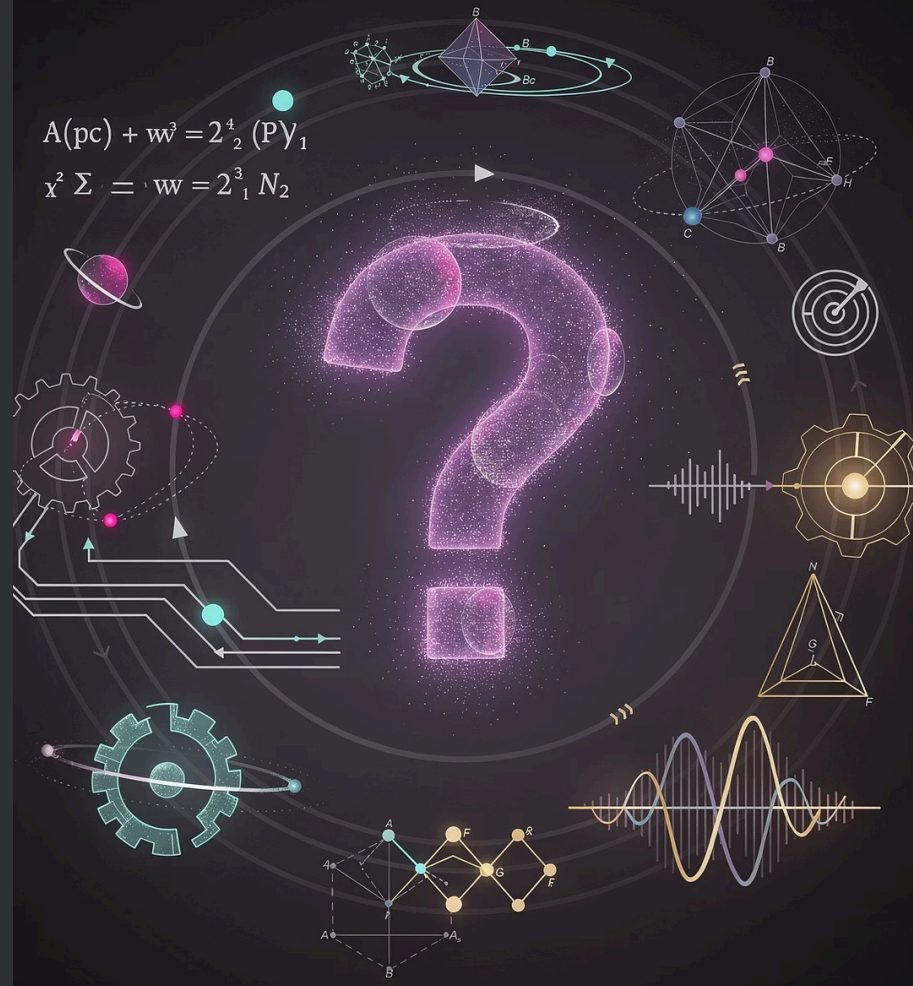


Faili Meçhul Bırakan Dil Üzerine

Bilimsel literatürde sıkça rastlanan ifadeler —"doğa kanunları katladı", "hidrofobik etki bir araya getirdi"— süreci tanımlamakta kısayol olarak kullanılır; ancak nedensellik açısından eksik bir tablo çizerler.

Bir kanun, bir işin **nasıl yapıldığının tarifi**dir; işi yapanın kendisi değil. "Yerçekimi kanunu elmayı düşürdü" demek, kanuna fail atfetmektir.

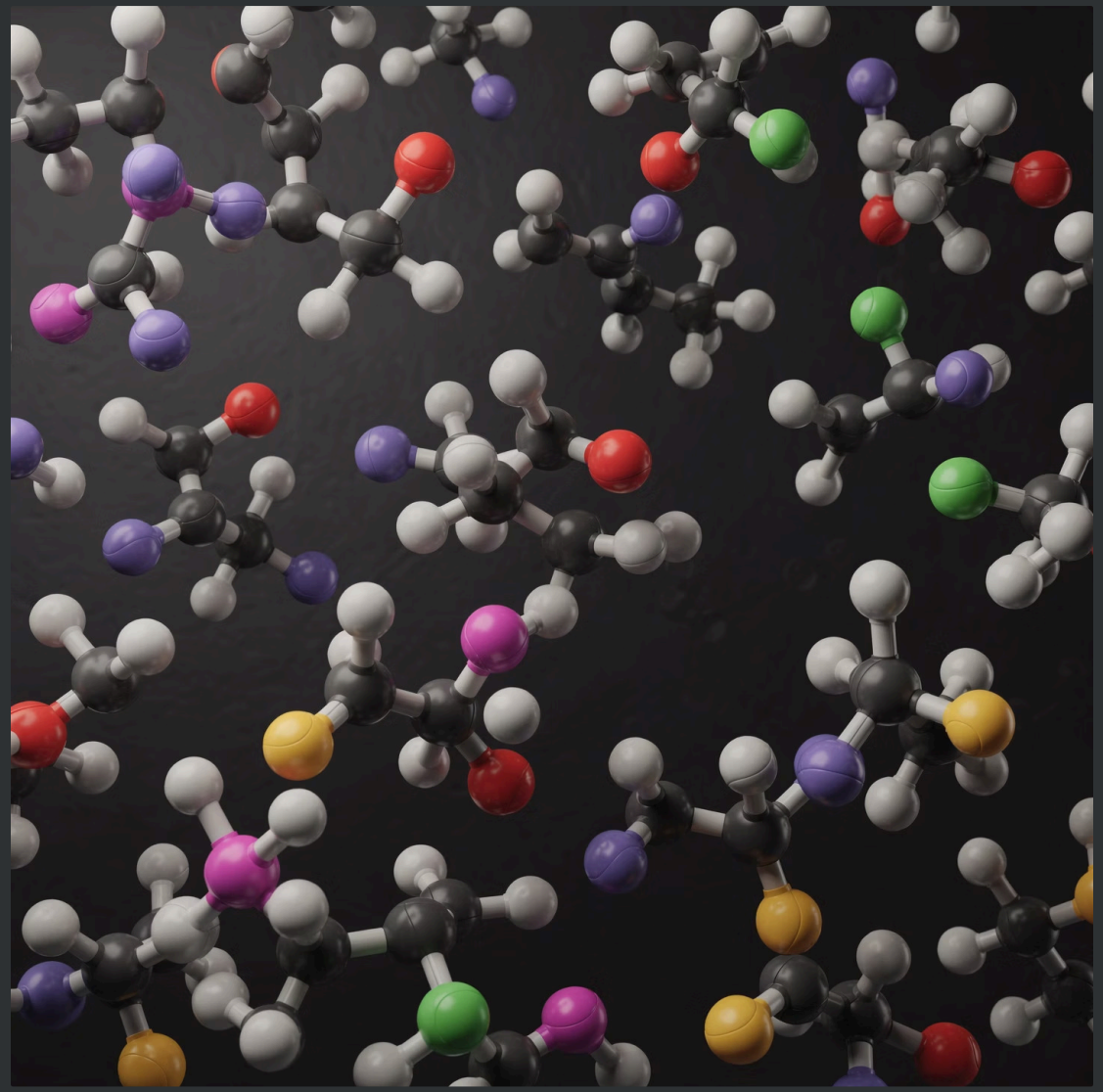
> Asıl soru göz ardı edilir: Suyu, amino asitleri ve fiziksel ortamı, bu etkiyi ortaya çıkaracak ve son derece işlevsel bir sonuç doğuracak biçimde kim neden var etmiştir?



Hammadde ile Sanat Eseri Arasındaki Uçurum

HAMMADDE

Cansız, tek başlarına biyolojik işlevi olmayan, belirli kimyasal özelliklere sahip amino asit molekülleri — salt bir potansiyel.



Bu hammaddeden inşa edilen işlevsel protein; enzimatik aktivite, molekül tanıma kapasitesi, sinyal iletme — hammaddesinin hiçbirinde bulunmayan özellikler.

- Hammaddede bulunmayan bu üstün özellikler, bir araya gelme eyleminin kendisiyle mi "yaratılmıştır"?
- Cansız, akılsız ve iradesiz bileşenler, kendilerinde olmayan bir bütünün planını nasıl kusursuzca uygular?

Nizam, Gaye ve Sanat

Nizam

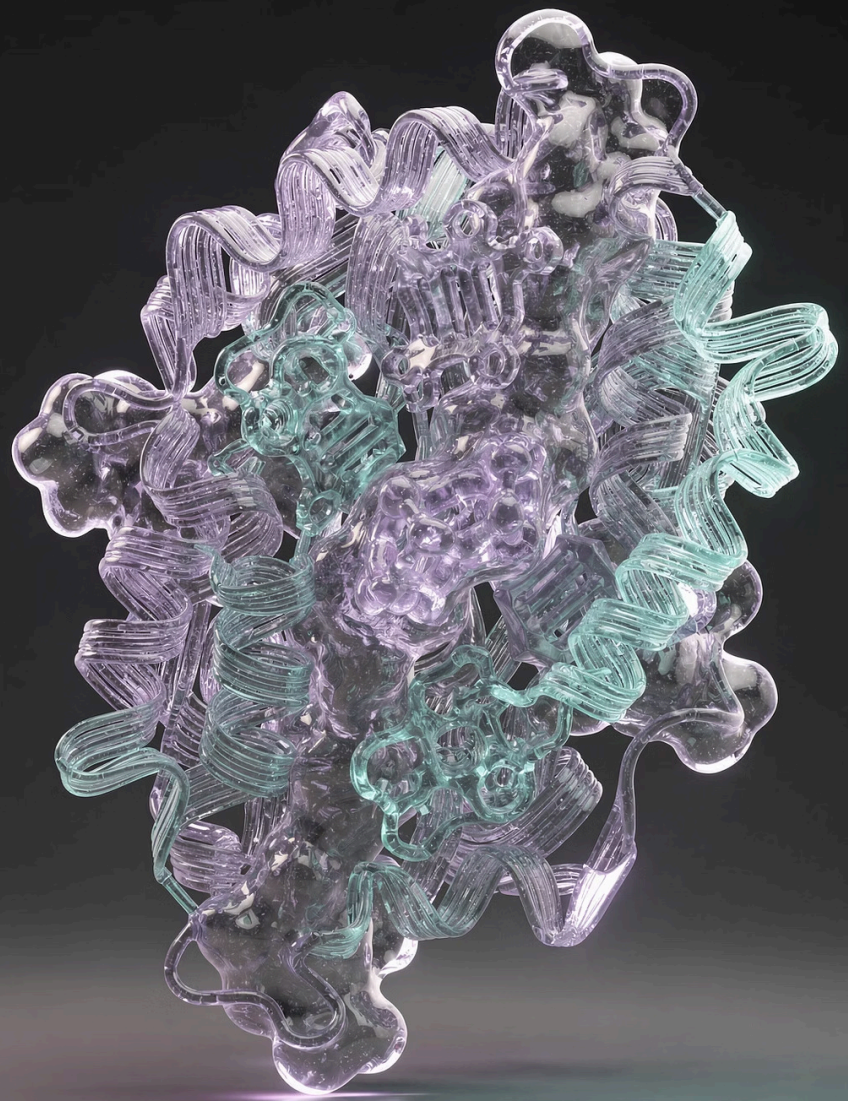
Her polipeptit zinciri, sayısız defa sentezlendiğinde, astronomik olasılıklar kaosuna rağmen her seferinde aynı, öngörülebilir ve tekrarlanabilir biçimde kendine özgü yapıya dönüştürülür

Gaye

Bir enzimin aktif bölgesi substratına kilit-anahtar uyumuyla şekillendirilir; bir iyon kanalı yalnızca belirli iyonlara izin verecek tünel yapısıyla tertip edilir; antikorlar antijenleri yakalayacak özel ceplere sahip kılınır

Sanat

Basit hammaddeden, her biri kendine özgü ve son derece karmaşık işlevler icra eden üç boyutlu yapılar inşa edilir



Dersin Sentezi: Dört Temel Prensip

1	**Bilgi Prensibi** İşlevsel üç boyutlu yapıya ait tüm bilgi, tek boyutlu amino asit diziliminde şifrelenmiştir **(Anfinsen)**
2	**Yönlendirilmiş Süreç Prensibi** Bu bilgiye rastgele erişim fiziksel olarak imkânsızdır; katlanma enerji hunisiyle belirli bir hedefe doğru yönlendirilir **(Levinthal)**
3	**Kalite Kontrol Prensibi** Hücrenin kalabalık ortamında ATP tüketen şaperonlar aktif denetim ve tamir mekanizması olarak görevlendirilmiştir
4	**Hassasiyet Prensibi** Yanlış katlanma Alzheimer ve Parkinson gibi ağır hastalıklarla sonuçlanır; doğru yapının elde edilmesi kritik bir hassasiyet gerektirir